

Segurança microbiológica de tomates da espécie *Lycopersicon esculentum* Mill: Eficácia comparada de Troclosen Sódico e Hipoclorito de Sódio

Cintia Pereira Bitancourt¹, Talita Mateus Reis¹, Thaís Bonfim Eusébio¹, Thalita Lorrana Soares Rocha¹, Marcos Vinicius Silva², Marina de Oliveira Paro^{3*}

1 - Acadêmicas do 8º período de Biomedicina da Faculdade Presidente Antônio Carlos - UNIPAC, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil. 2 - Co-orientador, Farmacêutico pelo UnilesteMG, Especialista em Microbiologia pela Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil. 3 – Orientadora, Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal de Ouro Preto. Docente de Parasitologia e Controle de Qualidade do curso de Biomedicina da UNIPAC/Ipatinga-MG. *Autor correspondente. Faculdade Presidente Antônio Carlos - Unipac Vale do Aço. Ipatinga - Rua Salermo, 299 – Bethânia, Ipatinga, MG. ✉ marina_paro@outlook.com

Resumo: A higienização incorreta de alimentos consumidos *in natura* está diretamente relacionada com os elevados índices de intoxicações alimentares, por isso é importante que o manuseio dos mesmos seja conforme as exigências sanitárias referentes à limpeza e desinfecção dos alimentos. O tomate é um fruto muito consumido no Brasil que apresenta alta relevância econômica e importante valor nutricional por conter vários nutrientes fundamentais. Contudo, pode ser um veículo na disseminação de micro-organismos potencialmente patogênicos. Apesar de estar presente no organismo humano, a bactéria *Staphylococcus aureus* pode ser encontrada em hortaliças e frutos, causando intoxicações alimentares e doenças de risco moderado, através da produção de enterotoxinas estafilocócicas. O presente trabalho teve por objetivo verificar a eficácia da ação desinfetantes do hipoclorito de sódio e do produto Kay-5 na eliminação de *S. aureus* em 10 amostras de tomates da espécie *Lycopersicon esculentum* Mill (Tomate caqui). Para as análises microbiológicas foram utilizados os meios Tioglicolato e ágar Manitol Salgado e, nos testes bioquímicos os ensaios enzimáticos de Catalase e Coagulase. Os tomates foram avaliados antes e após imersão nas soluções desinfetantes por 15 e 30 minutos. Os resultados mostraram que 70% dos tomates *in natura* apresentaram *S. aureus* e, após a imersão nas soluções dos dois produtos, todas as amostras foram desinfetadas, eliminando *S. aureus*. Verificou-se, portanto a eficácia dos dois produtos após a imersão nos tempos de 15 e 30 minutos (sendo 30 minutos mais eficazes, por haver menor contagem de UFC), sem causar alterações na aparência, tamanho, cor e consistência dos tomates. **Palavras - chave:** Tomates. Desinfecção. Hipoclorito de Sódio. Kay-5. *Staphylococcus aureus*.

Abstract: (Microbiological safety of *Lycopersicon esculentum* Mill tomatoes species: Effectiveness comparison of Sodium Troclosen and Sodium Hypochlorite). Improper cleaning of food consumed raw is directly related to the high levels of food poisoning, so it is important that the handling thereof is as sanitation requirements for the cleaning and disinfection of food. The tomato is a fruit widely consumed in Brazil that has high economic relevance and important nutritional value because it contains several key nutrients. However, it can be a vehicle in the spread of potentially pathogenic micro-organisms. Despite being present in the human body, the bacterium *Staphylococcus aureus* can be found in vegetables and fruits, causing food poisoning and moderate risk of disease by producing staphylococcal enterotoxins. This study aimed to verify the effectiveness of disinfectants action of sodium hypochlorite and Kay-5 product in the elimination of *S. aureus* in 10 samples of tomatoes of the species *Lycopersicon esculentum* (tomato persimmon). For microbiological analyzes the thioglycolate agar and Mannitol Salt means and in biochemical tests enzyme assays of catalase and coagulase were used. The tomatoes were evaluated before and after immersion in disinfectant solutions for 15 and 30 minutes. The results showed that 70% of fresh tomatoes presented *S. aureus* and after immersion in the solutions of the two products, all samples were disinfected by eliminating *S. aureus*. It is therefore the efficacy of the two products after immersion times of 15 to 30 minutes (30 minutes is effective because there is less CFU counts) without causing any change in appearance, size, color and consistency of tomatoes. **Key-words:** Tomatoes. Disinfection. Sodium Hypochlorite. Kay-5. *Staphylococcus aureus*.

Introdução

O tomate é o segundo fruto mais importante a nível mundial devido à busca constante da população para obter uma alimentação mais saudável e rica em nutrientes. A produção mundial per capita até 2005 cresceu 36% segundo estudo das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação ¹. De acordo com Anual Estatístico da Agricultura Brasileira, sua produção chegou a cerca de 122,5 milhões de toneladas, também no ano de 2005, onde o Brasil ficou em nono lugar em produção com aproximadamente 3,4 milhões de toneladas de tomates ². Trata-se de um alimento que contém alto teor de vitamina A e C, minerais e também o licopeno (pigmento vermelho com ação antioxidante e eficiente para fortalecimento do sistema imunológico). Este é amplamente utilizado *in natura* pelas redes *fast foods* e restaurantes, pois é apreciado e consumido frequentemente por grande parte da população e possui rápido preparo o que favorece a venda deste fruto fresco ^{2,3}.

Devido às exigências sanitárias referentes aos alimentos, os estabelecimentos que abrangem setores alimentícios redobram a atenção quanto à higienização e melhoria de seus produtos, dentre eles o tomate, pois a contaminação microbiológica deste fruto pode ocorrer antes, durante e após a colheita ^{1,2}. Dentre as causas frequentes para o favorecimento dessa contaminação, estão à ausência de boas práticas no processamento, manuseio,

conservação e transporte, que muitas vezes é precário ⁴.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) instrui procedimentos necessários para o alimento ser consumido de forma saudável, referindo-se à higienização sob os critérios de limpeza e desinfecção. A limpeza é determinada quando há remoção de resíduos orgânicos e inorgânicos, já a desinfecção é a redução por meio físico ou químico do número de micro-organismos no ambiente, afim de não comprometer a qualidade do alimento ⁵.

Com o intuito de se obter condições sanitárias que viabilizam o consumo de alimentos *in natura* como as hortaliças e frutos, métodos de limpeza e desinfecção são necessários e envolvem o uso de produtos adequados como, por exemplo, a água sanitária (hipoclorito de sódio) bastante utilizada popularmente e, o Kay-5 desinfetante (Trocloseno sódico, dihidratado e 5 a 20% de Carbonato de Sódio) utilizado em empresas *fast foods*. O uso de desinfetantes visa a eliminação de bactérias potencialmente patogênicas que podem ocasionar principalmente a intoxicação alimentar. A eficiência bactericida dos compostos a base de cloro, se dá ao ácido hipocloroso (HClO), que possui ação sobre a membrana celular das bactérias, que pode levar ao extravasamento celular devido à lise ^{6,7}.

A desinfecção é a principal forma de se prevenir intoxicações alimentares ⁶. A ANVISA define que produtos desinfetantes a base de cloro ou sódio são adequados, desde que estejam dentro das legislações em relação à embalagem, validade, rotulagem, dentre outras recomendações, a fim de prevenir reações alérgicas na população e alterações nos alimentos ⁸.

Apesar de fazer parte da flora normal da mucosa nasal, o *Staphylococcus aureus* pode causar infecção quando consumido em alimentos e água. A intoxicação alimentar na maioria das vezes se deve a enterotoxinas estafilocócicas, que são proteínas extracelulares produzidas pelos micro-organismos, com baixo peso molecular, hidrossolúveis, que possuem resistência a ação de enzimas proteolíticas do trato digestivo humano, e permanecem ativas. A ingestão de uma pequena quantidade de alimento contaminado por estas enterotoxinas podem causar sintomas, que são evidenciadas após duas a seis horas do consumo. Os sintomas principais são vômitos e diarreias, que podem ser agravados normalmente em idosos, recém-nascidos, pessoas com doenças crônicas e imunossuprimidas ^{9,10,11}.

Estas bactérias possuem a morfologia de coco e são classificadas como Gram positivas e se agrupam em arranjos semelhantes a cachos de uva. São anaeróbios facultativos, mesófilos, com tamanho aproximado de 0,5 a 1,0 micrômetros ^{12,13}. Segundo o Manual de

Classificação de Riscos dos Agentes Biológicos são classificados como micro-organismos de risco II, onde se encontram agentes causadores de doenças com perigo moderado, normalmente de curta duração e sem ameaça de morte ou sequelas, mas com sintomas severos e desconfortáveis que devem ser tratados ¹⁴.

Para identificação microbiológica desta bactéria é realizada semeaduras em meios de cultura que favorecem o crescimento de microrganismos, como o ágar Manitol Salgado, um meio amplamente utilizado no isolamento de *S. aureus* por conter o álcool manitol e um indicador de pH (vermelho de fenol), em que a degradação do manitol com a produção de ácido irá mudar a cor do meio de rosado a amarelo. Os testes bioquímicos são fundamentais para confirmação desta bactéria, pois estas podem ser identificadas por suas características de metabolismo como, por exemplo, sua capacidade de degradar alguns substratos e produzir gases. As provas bioquímicas utilizam meios de cultura e reagentes específicos para detectar os metabólicos resultantes da atividade bacteriana. Os testes utilizados na pesquisa foram a Catalase que verifica a capacidade desse microrganismo em degradar o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), por possuir a enzima catalase. As colônias positivas são posteriormente submetidas ao teste Coagulase que é fundamental para diferenciar *S. aureus* das outras espécies do mesmo gênero, através da formação de um coágulo visível ^{11,15}.

O objetivo do presente estudo é avaliar a eficácia da ação desinfetante da água sanitária – Super Globo Química Ltda e do Kay-5 – *Kay Chemical Company*, com base em sua capacidade de eliminar cepas de *S. aureus* de tomates *Lycopersicon esculentum* Mill (Tomate caqui), por se tratar de uma das principais espécies patogênicas que podem estar presentes em alimentos.

Materiais e métodos

Dez exemplares de tomates da espécie *Lycopersicon esculentum* Mill, popularmente conhecido como Tomate caqui, foram adquiridos em comércio local na cidade de Ipatinga, MG. Os frutos encontravam-se dispostos a céu aberto e sem qualquer proteção. Todas as amostras foram acondicionadas em um saco plástico e conduzidos até o Laboratório Dantas & Moreira, localizado na cidade de Timóteo, MG, onde as análises foram executadas no mesmo dia da coleta. Para seleção destes frutos utilizou-se os seguintes critérios de avaliação: bom aspecto físico (sem manchas e danificação), tamanho uniforme (arredondado), cor (avermelhado) e consistência (sementes e poupa firmes, maduro). Os ensaios foram realizados empregando a técnica de sementeiras em meios líquidos e sólidos¹⁵.

Preparo das soluções desinfetantes

Para desinfecção foram preparadas soluções utilizando hipoclorito de sódio, que possui teor entre 2,0 a 2,5% de cloro ativo em água e o Kay-5 composto por 6% de Trocloseno sódico, dihidratado e 5 a 20% de Carbonato de sódio por grama de produto conforme descrito a seguir.

Em três recipientes estéreis (A, B e C) coletou-se 1000 mL de água fornecida pela rede de distribuição. O recipiente A correspondeu ao controle da água. No recipiente B foram acrescentados 8,0 mL de hipoclorito de sódio e no recipiente C adicionou-se 1,0 g de Kay-5 conforme indicação dos fabricantes.

Com o intuito de realizar uma contra-prova para avaliação de contaminantes microbiológicos nas soluções preparadas, alíquotas de 1,0 mL foram transferidas para tubos contendo 10 mL do meio Tioglicolato. As amostras foram incubadas a 35 – 37°C por 24 horas e, ausência de crescimento implicou em incubação por mais 24 h. Após esse período, alíquotas do meio foram repicadas em meio ágar Manitol Salgado e incubadas nas condições já descritas.

Pesquisa dos micro-organismos antes da desinfecção

Os tomates sem nenhuma higienização prévia foram retirados do saco plástico e submetidos à pesquisa dos micro-organismos em ambiente estéril. Em cada fruto delimitou-se uma área da superfície ao redor do talo, onde passou-se o swab estéril umedecido com meio Tioglicolato. Em seguida, utilizou-se um segundo swab estéril seco para coletar o restante do meio presente na superfície da amostra. Os dois swabs foram imersos no tubo contendo meio Tioglicolato e as amostras incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h (em caso de ausência de crescimento incubou-se por mais 24 h).

Desinfecção dos tomates

As sujidades mais grosseiras foram retiradas com uma pré-lavagem em água corrente da rede de distribuição. Em seguida foram imersos dois tomates no recipiente A (somente com água), quatro no recipiente B (água com hipoclorito de sódio) e quatro no recipiente C (água com Kay-5). Após 15 minutos foi retirado um tomate do recipiente A e dois do recipiente B e C, e, após 30 minutos o restante das amostras foram retiradas e analisadas para avaliação da eficiência das soluções desinfetantes.

Identificação microbiológica das amostras

Para identificação microbiológica, realizou-se semeadura em meio ágar Manitol Salgado, que é seletivo para isolamento de *S. aureus*, pela Técnica de

“Spread plate”¹⁵, reconhecida como plaqueamento em superfície, onde foram adicionados 200 µL do meio Tioglicolato às placas. Depois de semeadas, as placas foram incubadas em estufa por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, para posterior análise visual da presença de colônias bacterianas nesse meio (se não houvesse o crescimento esperado, incubar-se-ia por mais 24 horas).

O controle positivo foi realizado com a cepa de *S. aureus* ATCC 25923 fornecida pela empresa PNCQ (Programa Nacional de Controle de Qualidade). Esta foi ressuspensa em solução de Cloreto de sódio (NaCl) 0,9%, cultivada e incubada sob as mesmas condições dos ensaios de pesquisa de *S. aureus* descrita anteriormente.

Testes Bioquímicos

Inicialmente para inferir a presença da bactéria *S. aureus*, o primeiro teste bioquímico realizado foi o da Catalase realizado da seguinte forma, na superfície da lâmina de vidro adicionaram-se duas gotas de peróxido de hidrogênio. Em seguida com auxílio da alça bacteriológica coletou-se uma colônia retirada do meio ágar Manitol Salgado, que foi misturada às gotas com leves movimentos circulares. O resultado foi considerado positivo nos ensaios onde houve formação de gás, visualizado pela presença das bolhas.

As colônias catalase positivas foram submetidas ao Teste de Coagulase. Em uma lâmina de vidro adicionou-se duas gotas de Plasma de Coelho 1% citratado,

em seguida com auxílio da alça bacteriológica acrescentou-se uma quantidade considerável do meio ágar Manitol Salgado e homogeneizou-se. O resultado é considerado positivo para a presença de *S. aureus* se houver a formação de coágulos.

Resultados e discussão

Produtos clorados são muito utilizados pela sociedade para desinfecção de produtos como frutos e hortaliças, além de possuir concentração permitida pela ANVISA. De acordo com o estudo de BOTH, o hipoclorito de sódio é bastante utilizado na desinfecção de alimentos e água, sem interferir na qualidade dos mesmos ⁶.

As empresas *fast foods* procuram utilizar produtos desinfectantes que sejam eficazes e práticos para desinfetar uma grande quantidade de hortaliças e frutos, com rapidez e qualidade. O Kay-5 é um produto em pó com base em produtos que

são altamente desinfectantes e fórmula à base de Carbonato de sódio (Na_2CO_3).

Inicialmente, o estudo avaliou as soluções desinfectantes, antes da imersão das amostras de tomate, para verificar se havia contaminação destes desinfectantes no meio. Através da análise visual, observou-se que o meio Tioglicolato não ficou turvo e, nem houve crescimento microbiano no meio ágar Manitol Salgado, confirmando a ausência de *S. aureus* nas soluções desinfectantes preparadas e na água fornecida pela rede de distribuição.

A Tabela 1 contém os resultados da pesquisa de micro-organismos realizada antes da imersão nas soluções desinfectantes e indica a presença de bactérias em todos os tomates analisados, sendo que destes 70% continham cepas de *S. aureus*. Desta forma, percebeu-se que o consumo deste fruto sem nenhum processo de higienização pode ser perigoso visto que esta bactéria é potencialmente causadora de intoxicação alimentar.

Tabela 1. Análises microbiológicas do tomate tipo caqui, de feira livre, sem higienização. Ipatinga - MG, agosto de 2014.

Amostras	Parâmetros	
	Presença sugestiva de bactérias heterotróficas totais	Presença sugestiva de <i>S. aureus</i>
Tomate não higienizado - 1	+	+
Tomate não higienizado - 2	+	+
Tomate não higienizado - 3	+	+
Tomate não higienizado - 4	+	+
Tomate não higienizado - 5	+	-
Tomate não higienizado - 6	+	-
Tomate não higienizado - 7	+	+
Tomate não higienizado - 8	+	+
Tomate não higienizado - 9	+	+
Tomate não higienizado - 10	+	-

Após imersão dos tomates, previamente lavados, na solução apenas com água fornecida pela rede de distribuição (recipiente A), conforme a Tabela 2, foi possível verificar que no tempo de 15 minutos havia presença de *S. aureus* e outras bactérias, e após 30 minutos não foi verificada a presença de bactérias, mas isto não indica que esta não estava presente na amostra. Este resultado pode levantar um equívoco ao considerar esta

uma desinfecção pela água, mas não há estudos e comprovação de que a água possui propriedades desinfectantes para eliminar bactérias, porém de acordo com a Portaria n° 36/MS/GM é recomendado que todos os pontos de rede de distribuição devem garantir a qualidade da água, onde a concentração mínima de cloro residual livre deve ser de 0,2 mg/L, o que pode ter interferido nos resultados ¹⁶.

Tabela 2. Análises microbiológicas do tomate tipo caqui, de feira livre, no recipiente A (somente com água). Ipatinga - MG, agosto de 2014.

Tempo de imersão no desinfetante	Amostra	Parâmetros	
		Presença sugestiva de bactérias heterotróficas totais	Presença sugestiva de <i>S. aureus</i>
15 minutos	Tomate - 1	+	+
30 minutos	Tomate -1	-	-

A Portaria nº 518 - Norma de Qualidade da Água para Consumo Humano ressalta que a água potável, ou seja, água para consumo popular deve atender aos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos para obter um padrão de potabilidade, não oferecendo riscos à saúde humana ¹⁷. Dessa forma, vale ressaltar que devido à amostra ter permanecido imersa por um tempo maior somente em água, pode ter ocorrido uma possível diluição dos micro-organismos presente na amostra no meio, fazendo com que a análise realizada posteriormente não tenha encontrado uma contagem de UFC suficiente para confirmação da presença de

micro-organismos. Além disso, a utilização de cloro para o tratamento da água pode ser um coeficiente para o resultado da análise.

Nos tomates que estavam imersos no recipiente B contendo água e hipoclorito de sódio, conforme a Tabela 3, observou-se que o *S. aureus* foi eliminado tanto com 15 minutos quanto com 30 minutos. Já as outras bactérias foram eliminadas somente com 30 minutos de imersão. Com isso, verificou-se a eficácia do hipoclorito de sódio na eliminação de *S. aureus* e também de outras bactérias, mostrando que se faz necessário a desinfecção destes frutos, que podem vir a ser potencialmente patogênicas.

Tabela 3. Análises microbiológicas do tomate tipo caqui, de feira livre, no recipiente B (água e Hipoclorito de Sódio). Ipatinga - MG, agosto de 2014

Tempo de imersão no desinfetante	Amostra	Parâmetros	
		Presença sugestiva de bactérias heterotróficas totais	Presença sugestiva de <i>S. aureus</i>
15 minutos	Tomate - 1	+	-
	Tomate - 2	+	-
30 minutos	Tomate - 1	-	-
	Tomate - 2	-	-

Apesar de se tratar de um tipo diferente de hortaliça os resultados do presente estudo corroboram com MOREIRA que avaliou em seu estudo a eficiência de sanificantes a base de cloro para desinfecção por imersão de amostras de alfaces, que apresentavam *S. aureus*¹⁸. O agente desinfetante utilizado no estudo se mostrou eficaz em beneficiar na manutenção e na boa qualidade das mesmas após imersão com produtos desinfetantes e lavagem com água.

Com isso, pode-se verificar que o hipoclorito de sódio, produto à base de cloro foi eficaz na desinfecção e eliminação

de cepas de *S. aureus* nos frutos, sendo ideal o tempo de 30 minutos, sem alterar a qualidade do mesmo.

Nas amostras imersas no recipiente C contendo água e Kay-5, conforme a Tabela 4, verificou-se que também houve eliminação de *S. aureus* nos dois tempos, porém outras bactérias presentes somente foram eliminadas no tempo de 30 minutos. Através desta análise observou-se que o Kay-5 também se mostrou eficaz na desinfecção de frutos para eliminar *S. aureus* e outras bactérias, sem alterar a qualidade dos tomates.

Tabela 4. Análises microbiológicas do tomate tipo caqui, de feira livre, no recipiente C (água e Kay-5). Ipatinga - MG, agosto de 2014

Tempo de imersão no desinfetante	Amostra	Parâmetros	
		Presença sugestiva de bactérias heterotróficas totais	Presença sugestiva de <i>S. aureus</i>
15 minutos	Tomate – 1	+	-
	Tomate – 2	+	-
30 minutos	Tomate -1	-	-
	Tomate -2	-	-

Esses resultados mostram que o Kay-5 é capaz de eliminar as cepas de *S. aureus* das amostras de tomates, assim como o hipoclorito de sódio, tanto com 15 quanto 30 minutos de exposição. Por outro lado, o Kay-5 foi capaz de eliminar as outras bactérias presentes após 30 minutos de imersão, da mesma forma que foi observado nos resultados das análises com Hipoclorito de Sódio. Portanto, verificou-se semelhança na eficácia de ambos desinfetantes na eliminação de *S. aureus* e outras bactérias.

Foram utilizados dados para proporção do rendimento destes desinfetantes, obtidos através de Regra de Três e comparação dos volumes de Hipoclorito de Sódio e Kay-5. Sendo que o hipoclorito de sódio foi utilizado 8 mL da amostra que continha 1 Litro, e o custo do produto foi de aproximadamente R\$3,00, já o Kay-5 foi utilizado 1g de uma amostra de 5 Kg, e o custo do produto foi de aproximadamente R\$100,00. Em seguida, foi comparado o rendimento destes produtos, a fim de verificar qual destes

desinfetantes possui um melhor custo benefício.

Apesar de semelhantes na desinfecção de frutos o hipoclorito de sódio e o Kay-5 possuem algumas distinções em relação ao rendimento. O hipoclorito de sódio, comumente conhecido como água sanitária, possui um valor relativamente baixo e com fácil acesso da população, este possui um rendimento de 125 vezes de acordo com as informações e proporções utilizadas no estudo, e sua validade é de normalmente 6 meses após a fabricação do produto. Já o Kay-5, apesar de possuir um acesso maior para empresas *fast foods* e seu custo ser mais elevado que o do hipoclorito de sódio, seu rendimento é de 5.000 vezes de acordo com as informações e proporções utilizadas no estudo, sua validade é de 12 meses após a data de fabricação. Com isso, comparando os dois desinfetantes é possível verificar que o Kay-5 possui 16,6% de melhor custo benefício em relação ao Hipoclorito de Sódio.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos neste estudo, pode-se verificar a presença de bactérias em tomates comercializados em feira livre com destaque para cepas de *S. aureus*. Além disso, verificou-se que o hipoclorito de sódio e Kay-5 são eficazes na eliminação dos *S. aureus*, sem alterar a aparência, tamanho, cor e consistência deste fruto, quando expostos por 30 minutos. O resultado da comparação do hipoclorito de sódio e Kay-5 representam uma grande economia financeira, e demonstra que, principalmente em áreas pobres, a desinfecção pode ser feita com segurança, garantindo a qualidade do alimento. Dessa forma, vê-se a importância da utilização de métodos práticos e eficazes na desinfecção de alimentos a fim de eliminar micro-organismos causadores de surtos de intoxicações alimentares.

Referências

- 1- Carvalho JL, Pagliuca LG. Tomate, um mercado que não para de crescer globalmente. Revista Capa. 6 ed. São Paulo, Jun 2007; (58) : 6-16.
- 2- Magalhães AM, Ferreira MD, Moretti CL. Eficácia de limpeza durante o beneficiamento do tomate de mesa. Ciênc Rural, dez 2009; 39 (9) : 2431-2438.
- 3- Pelosi MS. Produção de massa de tomate enriquecida com fontes naturais de carotenoides importantes para a saúde humana. [Dissertação] Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2012.
- 4- Cenci SA. Boas Práticas de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças na Agricultura Familiar. Recomendações Básicas para a Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação na Agricultura Familiar. 1nd ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; 2006 : 67-80.
- 5- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação - Resolução RDC nº 216. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo; de 15 de setembro de 2004.
- 6- Both JMC. A desinfecção como barreira sanitária na prevenção de doenças transmitidas por alimentos (DTA): sensibilidade de amostras de *S. aureus* isoladas em alimentos no IPB-LACEN/RS, nos anos de 2002 a 2006, frente ao hipoclorito de sódio. [Dissertação] Rio Grande do Sul. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.

- 7- Rodrigues DGR, Silva NBM, Rezende C, Jacobucci HB, Fontana EA. Avaliação de dois métodos de higienização alimentar. Rev Sau e Pesq 2011; 4 (3) : 341-350.
- 8- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico para Produtos Saneantes Categorizados como Água Sanitária e Alvejantes à Base de Hipoclorito de Sódio ou Hipoclorito de Cálcio e dá outras providências - Resolução RDC nº 55. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo; de 10 de novembro de 2009.
- 9- Borges MF, Nassu RT, Pereira JL, Andrade APC, Kuaye AY. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. Ciênc Rural 2008; 38 (5) : 1431-1438.
- 10- Nader Filho A, Ferreira LM, Amaral LA, Junior ODR, Oliveira RP. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas na mastite bovina. Arq Bras Me. Vet Zootec 2007; 59 (5) : 1316-1318.
- 11- Costa CDRS. Importância de *Staphylococcus spp.* produtores de enterotoxinas em alimentos.[Monografia] Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte; 2008.
- 12- Bresolin BMZ, Dall'stella JK, Silva SEF. Pesquisa sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em Curitiba/Paraná/Brasil. Estud Biolog 2005; 27(59) : 27-32.
- 13- Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. Jor Bras Patol Med Lab 2007; 43(6) : 413-423.
- 14- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. Classificação de risco dos agentes biológicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. 2 ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde; 2010.
- 15- Okura MH, Rende JC. Microbiologia: roteiros para aulas práticas. Ribeirão Preto, SP: Editora Tecmedd; 2008.

- 16- Brasil, Ministério da Saúde – Portaria nº 39 / 19 de janeiro de 1990. Aprova normas e o padrão de Potabilidade da Água destinada ao consumo humano. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 1990.
- 17- Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 518, de 25.03.04. Dispõe sobre normas e padrões de potabilidade de água para consumo humano. Brasília: SVS; 2004.
- 18- Moreira IS, Souza FC, Santos FM, Feitosa MKSB, Marques LF. Eficiência de soluções antimicrobiana na desinfecção de alface tipo cressa comercializada em feira livre. Rev Verd de Agroecol e Desenv Sust 2013; 8 (2) : 171 – 177.